

Министерство науки и высшего образования РФ  
Правительство города Севастополя  
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
Федеральный исследовательский центр  
«Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН»  
Всероссийское гидробиологическое общество при Российской академии наук  
Русское географическое общество  
Паразитологическое общество при Российской академии наук

# Изучение водных и наземных экосистем: история и современность

Международная научная конференция, посвящённая 150-летию  
Севастопольской биологической станции —  
Института биологии южных морей имени А. О. Ковалевского  
и 45-летию НИС «Профессор Водяницкий»

Тезисы докладов

13–18 сентября 2021 г.  
Севастополь, Российская Федерация

Севастополь  
ФИЦ ИНБЮМ  
2021

## Молекулярно-генетическая верификация таксономического статуса цианобактерии *Arthrospira platensis*, штамм IBSS-31

Дегтяр И. В.<sup>1</sup>, Лантушенко А. О.<sup>1</sup>, Боровков А. Б.<sup>2</sup>, Челебиева Э. С.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Севастопольский государственный университет, Севастополь, Россия

<sup>2</sup>ФГБУН ФИЦ «Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН», Севастополь, Россия

[skuratovskaya95@mail.ru](mailto:skuratovskaya95@mail.ru)

*Arthrospira platensis* (Nordstedt) Gomont относится к фотоавтотрофным, планктонным, нитчатым цианопрокариотам и является перспективным объектом биотехнологии. Ценность *A. platensis* заключается в высоком содержании белка (60–70 % от сухого веса), незаменимых аминокислот и жирных кислот, витаминов и минералов [Clement, 1975]. Содержание аминокислот в ней соответствует пропорциям, рекомендованным Продовольственной и сельскохозяйственной организацией ООН (Food and Agriculture Organization, FAO) [Dillon et al., 1995].

Начиная с таксономических исследований цианобактерий Гейтлером [1932], есть сложности в идентификации видов, принадлежащих родам *Spirulina* и *Arthrospira* [Desikachary, Jeeji-Bai, 1996], хотя последовательности генов 16S рРНК этих двух родов указывают на их лишь отдалённое родство [Nelissen et al., 1996 ; Scheldeman et al., 1999]. Как правило, для быстрой и рутинной идентификации цианобактерий используется оптическая микроскопия, однако даже у квалифицированных и опытных исследователей иногда могут возникать неоднозначные суждения. Поэтому молекулярные подходы особенно полезны для обнаружения и идентификации конкретных штаммов, в первую очередь морфологически трудноотличимых [Nowicka-Krawczyk et al., 2019 ; Choi et al., 2012].

В экспериментах использовали культуру цианобактерии *Arthrospira platensis*, штамм IBSS-31 из ЦКП «Коллекция гидробионтов Мирового океана» ФИЦ ИНБЮМ.

Для уточнения таксономического статуса используемой в эксперименте культуры был проведён филогенетический анализ с применением последовательности 16S rDNA. Исследования выполнены в ЦКП «Молекулярная структура вещества» СевГУ.

Выделение ДНК осуществляли с помощью набора реактивов «ДНК-Экстран-2» (Синтол, Россия) в соответствии с инструкциями производителя. Для количественного определения полученной геномной ДНК использовали нанофотометр Implen (Германия). ПЦР проводили с использованием пары праймеров 16S27F и 23S30R [Weisburg et al., 1991]. Ампликоны визуализировали с помощью гель-электрофореза в 1%-ном агарозном геле. Секвенирование полученного фрагмента осуществляли на секвенаторе «Нанофор-05» (Синтол, Россия), длина последовательности составила 1585 п. н.

Полученную последовательность гена 16S рРНК первоначально сравнили с последовательностями, доступными в базе данных Национального Центра биотехнологической информации (National Center for Biotechnology Information, NCBI), используя алгоритм BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>). Филогенетический анализ проводили в программе MEGA X [Kumar et al., 2018] и MrBayes [Ronquist et al., 2012]. Фильтрация выравнивания перед построением дерева осуществлялась вручную в программе BioEdit. Была определена наиболее подходящая модель эволюции нуклеотидов — параметрическая модель Kimura 2. Для реконструкции филогенетического дерева применяли методы максимального правдоподобия и Байеса. Достоверность установленной топологии проверяли при помощи bootstrap-анализа (1000 итераций). В качестве

внешней группы использовали последовательности *Gloeobacter violaceus* PCC 7421 (код GenBank NR 074282.1) и *Bacillus subtilis* IAM 12118 (NR 112116.2).

Филогенетический анализ полученного в данной работе ДНК-фрагмента показал максимальное соответствие нуклеотидным последовательностям фрагмента гена 16S рДНК, которые были получены для штаммов *Arthrospira platensis* NIES-39 (DQ393279.1), SAG 257.80 (DQ393282.1) и PCC 9108 (DQ393284.1). Это позволяет отнести штамм IBSS-31 к виду *Arthrospira platensis*.